



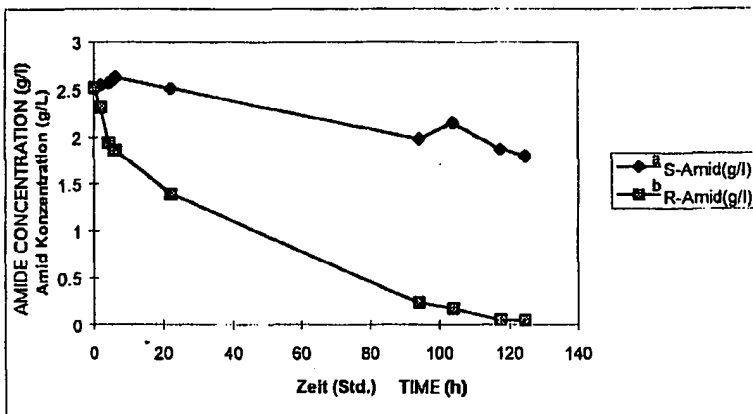
(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : C12P 7/52, 13/02, 41/00, C07C 53/21, 235/06		A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/50623 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 31. August 2000 (31.08.00)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/01491 (22) Internationales Anmeldedatum: 23. Februar 2000 (23.02.00) (30) Prioritätsdaten: 99103420.8 23. Februar 1999 (23.02.99) EP (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): LONZA AG [CH/CH]; Münchensteinerstrasse 38, CH-4052 Basel (CH). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): NAUGHTON, Andrew [US/US]; 4469 Wolfcreek Drive North, Mobile, AL 36609 (US). SHAW, Nicholas [GB/CH]; Terbinerstrasse 39, CH-3930 Visp (CH). (74) Anwälte: KAISER, Jürgen usw.; Winter Brandl Fürniss Hübner Röss Kaiser Polte Partnerschaft, Alois-Steinecker-Strasse 22, D-85354 Freising (DE).			(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>

(54) Title: METHOD FOR PREPARING OPTICALLY ACTIVE 3,3,3-TRIFLUOROMETHYL-2-ALKYL PROPIONIC ACID DERIVATIVES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON OPTISCH AKTIVEN 3,3,3- TRIFLUORMETHYL- 2- ALKYLPROPI- ONSÄUREDERIVATEN

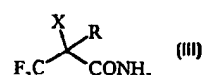
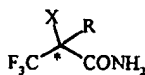
(57) Abstract

The invention relates to a novel method for the preparation of optically active 3,3,3-trifluoromethyl-2-alkyl propionic acid derivatives of the general formulae (I) and (II), in which R is ethyl or methyl and X is OH or NH₂, provided that if R is methyl X ≠ -OH. Said method comprises the reaction of a racemic propionic acid amide of the general formula (III) either by means of microorganisms which are able to use said propionic acid amide in the form of the racemate or one of its optically active isomers as only nitrogen source or by means of a polypeptide with amidohydrolase activity which is able to hydrolyze said propionic acid amide. The invention also relates to new optically active representatives of this category of compounds.



a...S-AMIDE (g/l)

b...R-AMIDE (g/l)



(57) Zusammenfassung

Beschrieben wird ein neues Verfahren zur Herstellung von optisch aktiven 3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurederivaten der allgemeinen Formeln (I) und (II), worin R Ethyl oder Methyl und X -OH oder NH₂ bedeutet, ausgenommen, dass wenn R = Methyl X ≠ -OH ist, umfassend die Umsetzung eines racemischen Propionsäureamids der allgemeinen Formel (III) entweder mittels Mikroorganismen, die befähigt sind, letzteres in Form des Racemats oder eines seiner optisch aktiven Isomere als einzige Stickstoffquelle zu verwerten oder mittels einem Polypeptid mit Amidohydrolase-Aktivität, welches befähigt ist, letzteres zu hydrolysieren. Desweiteren werden neue optisch aktive Vertreter dieser Verbindungsklasse beschrieben.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

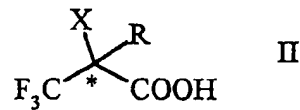
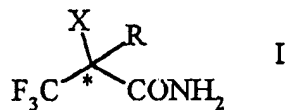
AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Verfahren zur Herstellung von optisch aktiven 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurederivaten

Beschreibung

5

Die vorliegende Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Herstellung von optisch aktiven 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurederivaten der allgemeinen Formeln



10

sowie neue Vertreter dieser Verbindungsklasse.

3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurederivate wie bspw. die 3,3,3-Trifluormethyl-2-hydroxy-2-ethylpropionsäure sind wichtige Zwischenprodukte zur Herstellung von therapeutischen Amiden (EP-A 0 524 781).

15

Die bekannten 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurederivate wie bspw. die 3,3,3-Trifluormethyl-2-amino-2-methylpropionsäure wurde bisher mittels einer Aminoacylase ausgehend von racemischem Trifluoracetyl-R(+)-2-trifluormethylalanin synthetisiert. Dabei wird das Produkt in geringer Ausbeute gebildet.

20

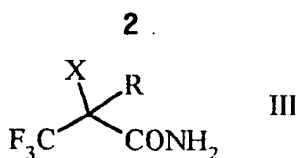
Aufgabe der vorliegenden Erfindung war ein Verfahren zur Herstellung von optisch aktiven 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurederivaten bereit zu stellen, bei dem die gewünschten Produkte sowohl in hervorragender Ausbeute als auch in relativ kurzen Umsetzungszeiten gebildet werden.

25

Diese Aufgabe wird mit dem Verfahren nach Anspruch 1 gelöst.

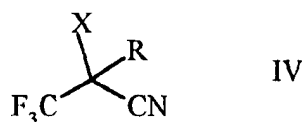
Erfindungsgemäss werden die 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurederivate derart hergestellt, dass man ein racemisches 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäureamid der Formel

30



worin R Ethyl oder Methyl und X -OH oder NH₂ bedeutet, ausgenommen, dass, wenn R = Methyl, X ≠ OH ist, entweder mittels Mikroorganismen, die befähigt sind letzteres in Form des Racemats oder eines seiner optisch aktiven Isomere als einzige Stickstoffquelle zu verwerten oder mittels eines Polypeptids mit Amidohydrolase-Aktivität, welches befähigt ist, letzteres zu hydrolysieren, umsetzt.

Die Edukte, die 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäureamide der allgemeinen Formel III können nach üblichen chemischen Methoden hergestellt werden. Vorzugsweise werden die Edukte wie bspw. das 3,3,3-Trifluormethyl-2-hydroxy-2-ethylpropionsäureamid ausgehend von dem entsprechenden 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurenitril der allgemeinen Formel



worin R und X die genannte Bedeutung haben durch Hydrolyse mit einer Mineralsäure hergestellt.

Als Mineralsäure können die fachmännisch üblichen wie bspw. Phosphorsäure, Salzsäure oder Schwefelsäure verwendet werden. Vorzugsweise wird als Mineralsäure Schwefelsäure verwendet. Zweckmässig wird die Mineralsäure im Überschuss, vorzugsweise in einer Menge von 2 bis 4 mol pro mol Propionsäurenitril, eingesetzt.

Zweckmässig wird die Hydrolyse bei einer Temperatur von 20 bis 140 °C, vorzugsweise von 90 bis 120 °C, durchgeführt.

Für die erfindungsgemässe Biotransformation können sowohl alle Mikroorganismen, die befähigt sind das Propionsäureamid der Formel III in Form des Racemats oder eines seiner optisch aktiven Isomere als einzige Stickstoffquelle zu verwerten als auch alle isolierten

Polypeptide mit Amidohydrolase-Aktivität, die befähigt sind, das Propionsäureamid der Formel III zu hydrolisieren, verwendet werden.

Mikroorganismen bzw. Polypeptide mit Amidohydrolase-Aktivität, die diese Eigenschaft besitzen, sowie das isolierte und sequenzierte DNA-Fragment, welche für die Amidohydrolase codiert, sind bereits bekannt und in der WO 98/01568 beschrieben. Als Mikroorganismen können sowohl sog. "Wildstämme", die, wie in der WO 98/01568 beschrieben, aus Bodenproben, Schlamm oder Abwasser isoliert werden können, oder sog. "gentechnologisch veränderte Mikroorganismen", die, wie in der WO beschrieben mit dem isolierten DNA-Fragment transformiert sind, eingesetzt werden. Zweckmässig wird die Biotransformation mittels Mikroorganismen der Gattung *Klebsiella* oder mittels "gentechnologisch veränderten Mikroorganismen" durchgeführt. Als Mikroorganismen der Gattung *Klebsiella* werden bevorzugt die der Spezies *Klebsiella oxytoca* PRS1 (DSM 11009), *Klebsiella oxytoca* PRS1K17 (DSM 11623), *Klebsiella panticula* ID-624 (DSM 11354) oder *Klebsiella pneumoniae* ID-625 (DSM 11355) oder deren funktionell äquivalenten Varianten und Mutanten eingesetzt. Als "gentechnologisch veränderte Mikroorganismen" sind bspw. Mikroorganismen der Spezies *Escherichia coli* DH5 und *Escherichia coli* XL-1 Blue MRF, jeweils enthaltend Plasmid pPRS1b, pPRS2a (DSM 11635), pPRS4 oder pPRS7 geeignet. Vorzugsweise wird *Escherichia coli* XL-1 Blue MRF[®] enthaltend Plasmid pPRS7 eingesetzt. Die Mikroorganismen mit der Bezeichnung DSM 11009 wurden am 24.06.1996, die mit DSM 11623 am 20.06.1997, die mit DSM 11354 und DSM 11355 wurden am 27.12.1996 und die mit DSM 11635 am 30.06.1997 bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroderweg 1b, D-38124 Braunschweig, gemäss Budapester Vertrag hinterlegt.

Die Biotransformation kann nach üblichem Anzüchten der Mikroorganismen mit ruhenden Zellen (nicht wachsende Zellen, die keine C- und Energiequelle mehr benötigen) oder mit wachsenden Zellen durchgeführt werden. Vorzugweise wird die Biotransformation mit ruhenden Zellen durchgeführt.

Für die Biotransformation können fachmännisch übliche Medien wie bspw. niedermolare Phosphatpuffer, HEPES-Puffer oder Mineralsalzmedien eingesetzt werden.

Die Biotransformation wird zweckmässig unter einmaliger oder kontinuierlicher Zugabe an 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäureamid der Formel III so durchgeführt, dass die Konzentration 10 Gew. %, vorzugsweise 2,5 Gew. % nicht übersteigt.

Der pH-Wert des Mediums kann in einem Bereich von 4 bis 12, vorzugsweise von 5 bis 11 liegen. Zweckmässig wird die Biotransformation bei einer Temperatur von 10 bis 80 °C, vorzugsweise von 10 bis 50 °C, durchgeführt.

Nach einer üblichen Umsetzungszeit von 1 min bis zu mehreren Tagen können dann die optisch aktiven 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurederivate der allgemeinen Formel I und II durch übliche Aufarbeitungsmethoden wie z. B. durch Extraktion isoliert werden.

Es wurde gefunden, wenn man als Substrat das 3,3,3-Trifluormethyl-2-amino-2-methylpropionsäureamid einsetzt, die entsprechende R-Säure innerhalb 5 Minuten gebildet wird und dann das entsprechende S-Amid isoliert werden kann.

Sowohl das racemische 3,3,3-Trifluormethyl-2-hydroxy-2-ethylpropionsäureamid der allgemeinen Formel III als auch die entsprechende (+)-Säure, das entsprechende (-)-Amid und das (S)-3,3,3-Trifluormethyl-2-amino-2-methylpropionsäureamid sind in der Literatur noch nicht beschriebene Verbindungen und demzufolge Bestandteil der Erfindung.

Weiterhin wurde gefunden, dass die optisch aktiven 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäureamide der allgemeinen Formel I auf bekannte Weise in die optisch aktiven 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurederivate der allgemeinen Formel II hydrolysiert werden können. Vorzugsweise wird dabei das (S)-3,3,3-Trifluormethyl-2-amino-2-methylpropionsäureamid in die (S)-3,3,3-Trifluormethyl-2-amino-2-methylpropionsäure hydrolysiert.

Die Hydrolyse erfolgt analog zu der in der WO 98/01568 beschriebenen Hydrolyse. Vorzugsweise erfolgt diese Hydrolyse entweder chemisch in Gegenwart einer Base oder mikrobiologisch mittels Mikroorganismen der Gattung *Rhodococcus*.

Beispiel 1

Herstellung von optisch aktivem 3,3,3-Trifluormethyl-2-hydroxy-2-ethylpropionsäureamid und von optisch aktiver entsprechenden Propionsäure

1.1 Herstellung von racemischem 3,3,3-Trifluormethyl-2-hydroxy-2-ethylpropionsäureamid

In einen 100-ml Kolben wurde konzentrierte Schwefelsäure (15,3 g) unter Argonatmosphäre hinzugegeben und das Edukt 3,3,3-Trifluormethyl-2-hydroxy-2-ethylpropionsäurenitril (Fluorchem) (8g) tropfenweise hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 15 min auf 115 °C erwärmt und dann auf 8 °C abgekühlt und anschliessend wurde destilliertes Wasser (21,8 g) langsam hinzugegeben. Dann wurde Diethylether hinzugefügt und das Ganze 20 min gerührt.

Nach Trennen der Phasen wurde die Ether-Phase mit Wasser (25 ml), mit wässriger gesättigter NaHCO₃ (25 ml) und wieder mit Wasser (25 ml) gewaschen, dann gesammelt, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter Vakuum getrocknet. Das resultierende Öl wurde mit n-Hexan behandelt und über Nacht gerührt. Insgesamt wurden 4,27 g getrocknete Kristalle, entsprechend einer Ausbeute von 48 % erhalten.

1.2 Biotransformation

Zellen von E.coli XL-1-Blue MRF/pPRS7 wurden in NYB-Medium (Nutrient Yeast Broth) mit 100 µg/ml Ampicillin bis zu einer optischen Dichte von OD₆₅₀ = 4,74 herangewachsen. Dann wurden die Zellen in 100 mM Phosphatpuffer (pH 8,0) gewaschen. Die anschliessende Biotransformation wurde mit einer Zellsuspension von einer optischen Dichte von OD₆₅₀ = 10 bei einer Eduktkonzentration (3,3,3-Trifluor-2-hydroxy-2-ethylpropionsäureamid) von 0,5 % durchgeführt. Das Ganze wurde bei 130 rpm, bei 37 °C, gerührt. Die Biotransformation wurde mittels chiraler GC gemessen und war nach 125 h beendet.

Um die gebildete R-Säure vom S-Amid zu trennen, wurde zunächst die Biotransformationslösung von pH 7,8 auf pH 10,0 mit 30 %iger NaOH eingestellt. Dann

wurde mit Ethylacetat (600 ml) extrahiert, dann das Ganze über Celite filtriert und die Phasen getrennt. Die dabei erhaltenen wässrigen Phasen wurden mit 30 %iger NaOH auf pH 10,0 eingestellt, mit Ethylacetat abfiltriert und die Phasen getrennt. Das Ganze wurde ca. 3 mal wiederholt. Die vereinigten Extrakte wurden über Na₂SO₄ getrocknet und dann am Rotationsverdampfer eingengt. Das dabei erhaltene Öl wurde mit Hexan versetzt und auf -18 °C abgekühlt. Nach 12 h wurde die Suspension abfiltriert, mit Hexan gewaschen und getrocknet. Anschliessend wurde das Rohprodukt (ca. 1,8 g) in heissem Toluol umkristallisiert und dann getrocknet. Es wurden 1,72 g (-)-Amid ($\alpha_D = -13,2$, $c = 3,75$ in Methanol) als beiger Feststoff erhalten, entsprechend einer Ausbeute von 34,4 % und mit einen "enantiomeric excess" (ee) von grösser als 98 %.

Um die gebildete (+)-Säure ($\alpha_D = +9,75$, $c = 3,31$ in Methanol) zu isolieren, wurde die wässrige Phase von pH 9,4 auf pH 1,0 mit 32 %iger HCl eingestellt und 2mal mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, mit Na₂SO₄ getrocknet und dann am Rotationsverdampfer eingengt. Anschliessend wurden zum Rückstand 15 ml Toluol hinzugegeben. Nach dem Einengen wurde 2,18 g bräunlicher Feststoff erhalten. Nach Umkristallisieren in heissem Toluol wurden 1,97 g beiger Feststoff, entsprechend einer Ausbeute von 39,1 % und mit einem ee-Wert von 85,2 % erhalten.

Die Ergebnisse sind in Fig. 1 dargestellt.

Beispiel 2

Herstellung von (S)-3,3,3-Trifluormethyl-2-amino-2-methylpropionsäureamid

2.1 Herstellung von racemischen 3,3,3-Trifluormethyl-2-amino-2-methylpropionsäureamid

Die Herstellung wurde analog zur EP-A 0 298 029 durchgeführt.

Kaliumcyanid (66,4 g) und destilliertes Wasser (50 ml) wurden vorgelegt und die Suspension auf 0 bis 5 °C abgekühlt. Dann wurde Trifluoraceton (112,1 g) innerhalb 1,5 h hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde in einem Berghofautoklaven umgefüllt und auf ca. 85 °C erwärmt. Nach ca. 1,5 h wurde Ammoniak-Lösung (124,5 g) hinzugetropft und das Ganze ca. 7 h auf 110 - 115 °C erwärmt.

Die erhaltene braune Lösung wurde am Rotationsverdampfer bei 60 °C eingeeengt, um 181,4 g amorphe braune Masse zu erhalten. Das Produkt wurde bei 140 °C/0,1 mbar sublimiert und dann aus Ethylacetat umkristallisiert. Es wurden 0,67 g weisser Feststoff entsprechend einer Ausbeute von 3 % erhalten.

2.2 Biotransformation

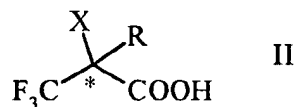
Die Biotransformation wurde mittels eines zellfreien Enzymextrakts von E.coli XL-1-Blue MRF/pPRS7 durchgeführt. Dazu wurden die Zellen in NYB mit 100 µg/ml Ampicillin bis zu einer optischen Dichte von $OD_{650} = 3,59$ angezüchtet. Dann wurden sie in 100 mM Phosphatpuffer gewaschen und dann im selben Puffer zu einer OD_{650} von 19 resuspendiert. Die Zellen wurden durch 3maliges Behandeln mit der French-Pressen aufgebrochen, der Zellextrakt 5 min auf 75 °C erhitzt und die Zelltrümmer durch Zentrifugation ($20'000 \times g$) entfernt. Der klare Überstand hatte eine Proteinkonzentration von 9,75 mg/ml und wurde für die Biotransformation eingesetzt. Hierzu wurde 0,5 % racemisches 3,3,3-Trifluormethyl-2-amino-2-methylpropionsäureamid bei 40 °C mit 0,9 mg/ml Enzymextrakt versetzt. Die Reaktion wurde mittels chiraler GC verfolgt. Nach 5 min war die Umsetzung vollständig.

Die Reaktion wurde durch Zugabe des gleichen Volumen an Ethylacetat gestoppt und dann 4mal mit Ethylacetat extrahiert.

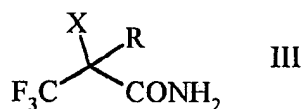
Um das (S)-Amid zu isolieren wurde die wässrige Phase mit 200 ml Ethylacetat extrahiert (4mal) und die vereinigten Extrakte mit $NaSO_4$ getrocknet und anschliessend am Rotationsverdampfer bei 40 °C eingeeengt. Es wurden 640 mg gelbbrauner Feststoff erhalten. Dieser Feststoff wurde aus 0,5 g Ethylacetat und Hexan (4 ml) umkristallisiert. Es wurden 0,5 g (S)-Amid entsprechend einer Ausbeute von 38,5 % bez. eingesetzten Racemats erhalten. Der ee-Wert betrug 100.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von optisch aktiven 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurederivaten der allgemeinen Formeln

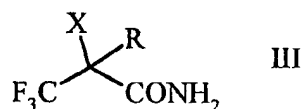


worin R Ethyl oder Methyl und X -OH oder NH₂ bedeutet, ausgenommen, dass wenn R = Methyl X ≠ -OH ist, umfassend die Umsetzung eines racemischen 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäureamids der allgemeinen Formel

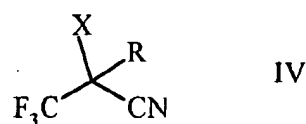


worin R und X die genannte Bedeutung haben entweder mittels Mikroorganismen, die befähigt sind letzteres in Form des Racemats oder eines seiner optisch aktiven Isomere als einzige Stickstoffquelle zu verwerten oder mittels eines Polypeptids mit Amidohydrolase-Aktivität, welches befähigt ist, letzteres zu hydrolysieren.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man das 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäureamid der allgemeinen Formel

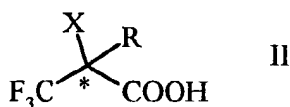


derart herstellt, dass ein 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurenitril der allgemeinen Formel

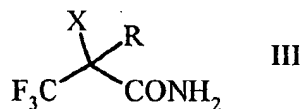


mit einer Mineralsäure hydrolysiert wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass als Mineralsäure Schwefelsäure eingesetzt wird.
4. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Hydrolyse bei einer Temperatur von 20 bis 140 °C durchgeführt wird.
5. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Biotransformation mittels Mikroorganismen der Gattung *Klebsiella* durchgeführt wird.
6. Verfahren zur Herstellung von optisch aktiven 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurederivaten der allgemeinen Formel



worin R Ethyl oder Methyl und X -OH oder NH₂ bedeutet, ausgenommen, dass wenn R= Methyl X ≠ OH ist, dadurch gekennzeichnet, dass in der ersten Stufe ein racemisches 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäureamid der allgemeinen Formel

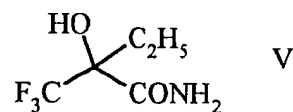


worin R und X die genannte Bedeutung haben entweder mittels Mikroorganismen, die befähigt sind letzteres in Form des Racemats oder eines seiner optisch aktiven Isomere als einzige Stickstoffquelle zu verwerten oder mittels eines Polypeptids mit Amidohydrolase-Aktivität, welches befähigt ist, letzteres zu hydrolysieren in ein optisch aktives 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäureamid der allgemeinen Formel



worin R und X die genannte Bedeutung haben, überführt wird und letzteres dann in der zweiten Stufe auf bekannte Weise in das optisch aktive 3,3,3-Trifluormethyl-2-alkylpropionsäurederivat (Formel II) hydrolysiert wird.

7. 3,3,3-Trifluormethyl-2-hydroxy-2-ethylpropionsäureamid der Formel



8. (+)-3,3,3-Trifluormethyl-2-hydroxy-2-ethylpropionsäure
9. (-)-3,3,3-Trifluormethyl-2-hydroxy-2-ethylpropionsäureamid
10. (S)-3,3,3-Trifluormethyl-2-amino-2-methylpropionsäureamid

Fig. 1

